ZUR TECHNIK DER TUBERKELBAZILLENFÄRBUNG.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT ZU TÜBINGEN

VORGELEGT VON

KARL DORDT
APPROB. ARZT AUS STUTTGART.

Horb a. N.
Druck von Josef Möst
1919.

ZUR TECHNIK DER TUBERKELBAZILLENFÄRBUNG.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

DER

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT ZU TÜBINGEN

VORGELEGT VON

KARL DORDT

APPROB. ARZT AUS STUTTGART.

Gedruckt mit Genehmigung einer hohen medizinischen Fakultät der Universität Tübingen.

Dekan:
Prof. Dr. Müller.

Referent:
Prof. Dr. Weitz.

MEINEN LIEBEN ELTERN
IN DANKBARKEIT GEWIDMET.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553613_0146

Der grossen Entdeckung Robert Kochs verdanken wir die Kenntnis des Erregers der Tuberkulose. Baumgarten sah den Tuberkelbazillus in ungefärbtem Zustande wohl schon früher, aber unbestrittenes Verdienst Kochs bleibt es doch, den Tuberkelbazillus als erster in seinem biologischen, pathogenetischen und morphologischen Verhalten erforscht zu haben. Der grösste Teil unseres Wissens über den Tuberkelbazillus basiert auf seinen exakten, scharfsinnigen Forschungen.

Der Tuberkelbazillus hat eine Länge von 3 μ und zeigt morphologisch grosse Verschiedenheit. Bald sieht man schlanke, homogene Stäbchen, bald sind dieselben segmentiert, bald granuliert.

Bei der Kleinheit des Bazillus war die Schwierigkeit, denselben im ungefärbten Präparat aufzufinden und mit Sicherheit als solchen festzustellen, nicht gering. Es lag deshalb nahe, denselben durch Färbung des Präparats dem Auge besser sichtbar zu machen.

Wieder war Koch der erste, der den Tuberkelbazillus mit alkalischem Methylenblau färbte. Da durch eine einfache Färbung mit Methylenblau auch sämtliche Begleitbakterien gefärbt werden, schuf diese Färbung für die Untersuchung nicht viel bessere Verhältnisse.

Da nun die eminente Wichtigkeit des sicheren Nachweises der Tuberkelbazillen in den Se- und Exkreten Kranker auf der Hand lag, warf sich die Forschung mit aller Macht darauf, das morphologische und tinktorelle Verhalten des Tuberkelbazillus weiter zu ergründen und vor allem die Technik der Sichtbarmachung des Erregers zu vervollkommnen.

Sehr viel weiter kam man in dieser Richtung, als man durch exakte Forschungen die Säurefestigkeit des Tuberkelbazillus fand, eine Eigenschaft, auf welcher die meisten Färbemethoden beruhen. Die Säurefestigkeit basiert darauf, dass die sog. säurefesten Bakterien eine fett- oder wachsartige Hülle besitzen, die im Stande ist, sich mit bestimmten Farbstoffen zu färben und diese bei nachfolgender Entfärbung mit Säuren festzuhalten.

Leider ist nun die Säurefestigkeit eine nicht nur dem Tuberkelbazillus eigentümliche Eigenschaft, vielmehr gehört eine ganze Gruppe von Bakterien zu den sog. „Säurefesten".

Diese Gruppe umfasst neben den Tuberkelbazillen, Kaltblütertuberkelbazillen, die Erreger der Lepra, säurefeste Milch- und Butterbazillen und Smegmabazillen. Morphologisch lassen sich diese Ba-

zillen nur sehr schwer von dem Tuberkelbazillus differenzieren, doch zeigen sie in der Pathogenität und kulturell ein sehr abweichendes Verhalten.

Am leichtesten gelingt es noch, den Smegmabazillus, der oft als harmloser Saprophyt tuberkulösen oder tuberkuloseverdächtigen Se- und Exkreten beigemischt ist, auszuschliessen. Infolge seiner geringen Alkoholfestigkeit gelingt es, ihn schon rein tinktorell vom Tuberkelbazillus zu unterscheiden. Ein noch besseres Unterscheidungsmittel bietet die von Much modifizierte Grammethode. Der Smegmabazillus hat keine gramfärbbaren Granula, während die übrigen Säurefesten, in erster Linie der Tuberkelbazillus, alle granuläre Formen aufweisen.

Man hat nun weiter versucht, die Eigenschaft der Tuberkelbazillen, aufgenommene saure Farbstoffe bei nachfolgender Behandlung mit Alkalien nicht abzugeben, färberisch zu verwerten. Eine Anzahl von Färbemethoden beruht auf diesem Prinzip, doch hat sich gezeigt, dass die Alkalifestigkeit eben auch keine spezifische Eigenschaft der Tuberkelbazillen bildet.

Die Mehrzahl der heute gebräuchlichen Färbemethoden beruht auf der Säure- und Alkoholfestigkeit des Tuberkelbazillus.

Das Bestreben, eine vor allem sichere, daneben aber auch leicht und schnell ausführbare Färbemethode für den Tuberkelbazillus zu finden, hat eine sehr grosse Anzahl von Methoden gezeitigt. Dass aber diese Methoden alle nicht restlos befriedigende Resultate ergaben, beweist die in der Literatur immer wieder auftauchende Angabe teils von neuen Methoden, teils von Modifikationen schon bekannter.

Es liegt in der Natur der Sache, dass jeder Erfinder einer Methode oder einer Modifikation von seiner Erfindung in ganz besonderem Masse eingenommen ist und an ihr Vorzüge findet und preist, die einer exakten Nachprüfung oft nicht in vollem Umfange standzuhalten vermögen.

Es wurden nun mit einer Reihe der gebräuchlichsten Färbemethoden vergleichende Untersuchungen angestellt, um eine in erster Linie für den Praktiker leicht und ohne grosse Apparatur auszuführende Methode herauszufinden, die gleichzeitig die besten und schnellsten Resultate ergibt. Um von möglichst einfachen Verhältnissen auszugehen, wurden die Untersuchungen an gewöhnlichen Ausstrichpräparaten ausgeführt ohne Benützung des Uhlenhuthschen Antiforminanreicherungsverfahrens.

Zu den Untersuchungen wurden nicht so sehr bazillenreiche Sputa verwandt als vielmehr solche, in denen bisher nur wenige oder gar keine Bazillen gefunden worden waren. Gerade an diesen Sputa zeigt sich in erster Linie, was eine Nachweismethode an Schärfe zu leisten vermag. Um Fehlerquellen tunlichst zu ver-

meiden, wurden die Präparate einer Serie möglichst aus einem und demselben Sputumklümpchen entnommen.

Färbung nach Ehrlich:

Das Präparat wird mit Anilinwassergentianaviolett 1—2 Minuten über der Flamme erhitzt und dann mit 30 %iger Salpetersäure 1—4 Sekunden behandelt. Darauf kommt es für einige Augenblicke in 60 %igen Alkohol. Abspülen mit Wasser. Nachfärben mit wässeriger Bismarckbraunlösung, wobei nicht über der Flamme erhitzt wird.

Färbung nach Ziehl-Neelsen:

1. Färben mit konzentriertem Karbolfuchsin unter Erwärmen bis zur Dampfbildung während ½—1 Minute.
2. Entfärben in 5 %iger Schwefelsäure 2—5 Sekunden.
3. Abspülen mit 70 %igem Alkohol.
4. Nachfärben mit Löfflerschem Methylenblau 5—10 Sekunden.
5. Abspülen mit Wasser.

Färbung nach Fränkel-Gabbet:

1. Färbung mit konzentriertem Karbolfuchsin unter Erwärmen bis zur Dampfbildung während 2 Minuten.
2. Entfärben und Gegenfärbung (5 Minuten) mit Methylenblaulösung (Methylenblau B B pat. 2,0; Acid. sulf. 25 % 100,0).
3. Abspülen mit Wasser.

Färbung nach Hermann:

1. 3 %ige alkoholische Lösung von Kristallviolett.
2. 1 %ige wässerige Lösung von Ammoniumkarbonat.
3. 10 %ige Lösung von Salpetersäure.
4. 95 %iger Alkohol.
5. gesättigte alkoholische Lösung von Bismarckbraun (Vesuvinlösung).

Mische einen Teil der ersten mit drei Teilen der zweiten Lösung, giesse die Mischung auf den Objektträger, erhitze bis zum Dampfen und zwar drei Mal, indem man jedes Mal zwischendurch abkühlen lässt. Farbe abgiessen, Präparat waschen in fliessendem Wasser. Beriesele mit 3 und 4, bis das Präparat farblos erscheint, füge Lösung 5 für 3 Minuten hinzu, trockne und untersuche mit Oelimmersion.

Karbolfuchsin-Tropäolinmethode.

1. Auftragen von Karbolfuchsin und vorsichtiges Erwärmen bis zur Dampfbildung. Abspülen in Wasser.
2. Entfärben in salzsaurem Alkohol (Acid. hydrochlor. 6,0, alcohol absolut. 210,0; aq. dest ad 300,0) oder Entfärben in 15 %iger Salpetersäure, Abspülen in 60 %igem Alkohol.
3. Gegenfärbung mit gesättigter alkoholischer Tropäolinlösung, etwa 5 Tropfen 5—10 Sekunden. Abspülen in Wasser.
4. Trocknen zwischen Fliesspapier.

Pikrinsäuremethode (Spengler).

1. Aufgiessen von Karbolfuchsin auf das fixierte Präparat, vorsichtige Flammenerwärmung.
2. Nach Dekantierung der Fuchsinlösung Aufgiessen von Prikrinsäure-Alkohol. (Esbachreagens-Alkohol aa) Wirkung wenige Sekunden bis zur schwachen Gelbfärbung der Sputumbeläge.
3. Abspülen mit 60 %igem Alkohol.
4. Entfärben durch 15 %ige Salpetersäure.
5. Abermaliges Abspülen mit 60 %igem Alkohol.
6. Kontrastfärbung mit Pikrinsäure-Alkohol, Abspülen mit Wasser, Trocknen über Flamme.

Kronbergersche Methode.

1. Fixierung der beliebig dicken Sputumschicht auf dem Objektträger durch Lufttrocknung und nachfolgende vorsichtige Flammenerwärmung.
2. Aufgiessen der gebräuchlichen Karbolfuchsinlösung, gelindes Erwärmen bis zur 1. Dampfbildung.
3. Entfärben durch 15 %ige Salpetersäure
4. Abspülen mit 60 %igem Alkohol.
5. Aufgiessen von offizineller Jodtinktur, die mit dem 4fachen Volumen 60 %igen Alkohols verdünnt ist. Wirkung wenige Sekunden.
6. Abspülen der Jodlösung mit starkem Wasserstrahl (sichere Vermeidung von Niederschlägen durch Jodausfällung). Trocknen über Flamme.

Methode von Gasis.

5 ccm einer 1 %igen Eosinlösung (1 g kristallisiertes Eosin, 5 ccm Alkohol absolut., 95 ccm aq. dest.) werden mit einem etwa linsengrossen Stücke Quecksilberchlorid im Reagenzglase langsam unter Umschütteln gekocht, bis sich das Quecksilberchlorid ganz auflöst. Der Farbstoff wird heller und zeigt Schwebefällung. Das Präparat wird mit einer warmen Beize etwa 1—2 Minuten bedeckt. Abspülen mit Wasser und Behandlung mit dem alkalischen Entfärbungsmittel (0,5 Natriumhydrat; 1,0 Kaliumjodid; 100 ccm 50 %iger Alkohol) solange, bis die rote Farbe verschwindet und eine weissgrüne auftritt.

Entfernen des Entfärbungsmittels mit Alkohol absolut. Wasserspülung.

Kontrastfärbung mit Methylenblau (1,0 kristallisiertes Methylenblau; 10 ccm Alkohol absolut.; 0,5 ccm Salzsäure; 90 ccm aq. dest.) 2—3 Sekunden. Wasserspülung.

Bei der vergleichenden Untersuchung von über 130 nach vorstehenden Methoden gefärbten Präparaten, wobei für die rein zahlenmässige Beurteilung der gefundenen Resultate die Skala nach Gaffky zu Grunde gelegt wurde, wurden folgende Beobachtungen gemacht:

Bei der Färbung nach Ehrlich sind die Tuberkelbazillen violett gefärbt und zeigen bald homogene Stäbchenform, bald sind sie granuliert. Doch überwiegt die Zahl der homogenen Stäbchen bedeutend.

Die Kontrastfärbung ist gelb bis hellbraun, die violetten Bazillen sind auf dem helleren Grunde gut zu erkennen. Leukozyten und Epithelzellen erscheinen mit dunkelbraunem Kern, das Protoplasma und Schleimmassen sind heller tingiert. Die Begleitbakterien sind braun gefärbt und kommen deutlich zu Gesicht.

Der Ueberblick, den die Präparate geben, ist im allgemeinen gut, doch ist die Struktur der Zellen und Kerne nicht immer sehr schön zu erkennen. Bei der Anfertigung des Präparates muss man sich hüten, die Kontrastfärbung zu lange durchzuführen, da dann unspezifische Bazillen sehr dunkel gefärbt werden und nun nicht mehr ganz leicht von ebenfalls braun überfärbten Tuberkelbazillen unterschieden werden können.

Die Ehrlichsche Methode wird heute wohl wenig mehr angewandt, da sie an Schärfe von anderen Färbemethoden bedeutend übertroffen wird.

Die Färbung nach Ziehl-Neelsen ist heute so ziemlich die gebräuchlichste und gibt rein färberisch die schönsten Präparate.

Die Tuberkelbazillen sind leuchtend rot und fallen gut ins Auge. Auch bei dieser Methode überwiegen die homogenen Stäbchen gegenüber den granulierten Bazillen.

Der Grund des Präparates ist blau, wodurch ein sehr hübscher Kontrast erzielt wird. Schleim und das Protoplasma der Zellen zeigen hellblaue, die Zellkerne dunkelblaue Färbung. Die Zellstruktur ist sehr deutlich und schön zu erkennen. Die Begleitbakterien sind ebenfalls dunkelblau gefärbt und es können solche in Bazillenform bei der glänzenden Kontrastfärbung wohl nie zu Verwechslungen mit Tuberkelbazillen Anlass geben.

Will sich der Untersucher neben der Feststellung der Tuberkelbazillen vor allem einen raschen und klaren Ueberblick über die zelligen Elemente und die Zellstruktur des Präparates verschaffen, dann leistet ohne Zweifel die Färbung nach Ziehl-Neelsen das beste. Was die Schärfe des Bazillennachweises anbelangt, so genügt die Methode wohl für die gewöhnlichen Anforderungen der Praxis, ausserdem kann man die Methode durch die prolongierte Färbung verschärfen.

Trotz alledem kann man sich, bei häufigerer und vor allem vergleichender Durchsicht von Präparaten, des Eindrucks nicht erwehren, dass bei der Ziehl-Neelsenschen Methode durch die Kontrastfärbung mit Methylenblau eine grosse Zahl von fuchsingefärbten Bazillen überfärbt werden. Man kann sich gegen diesen Fehler der Methode etwas schützen, wenn man die Ausstrichpräparate möglichst dünn anfertigt und die Kontrastfärbung abkürzt.

Die Färbemethode nach Fränkel-Gabbet ist im Grunde genommen eigentlich nur eine Modifikation der Ziehl-Neelsenschen, beruht auf denselben Prinzipien und wird mit denselben Farbstoffen ausgeführt. Neues bietet sie nur insofern, dass bei ihr Entfärbung und Kontrastfärbung gleichzeitig vorgenommen werden.

Auch hier sind die Tuberkelbazillen schön hochrot gefärbt und imponieren auf der blauen Kontrastfärbung sehr gut.

Für die Formen der Tuberkelbazillen, sowie für die zelligen Elemente und die Begleitbakterien gilt das bei der Ziehl-Neelsenschen Methode Gesagte.

Will man morphologische Studien irgendwelcher Art machen, dann ist jedoch diese Methode nicht genau genug. Ihre Beliebtheit verdankt die Methode der schnellen Ausführbarkeit.

Dieser Vorzug geht jedoch entschieden auf Kosten der Schärfe, denn es werden bei der Methode Fränkel-Gabbet sicher noch mehr Bazillen durch das Methylenblau überfärbt als bei der Ziehl-Neelsenschen. Ziehl-Neelsen ergibt oft noch positive Resultate, wo Fränkel-Gabbet versagt.

Bei der Färbemethode nach Hermann zeigen die Tuberkelbazillen hübsche violette bis blauschwarze Farbe. Es fällt auf, dass in dem nach Hermann gefärbten Präparat sich etwa ebenso viele granulierte Bazillen wie homogene Stäbchen finden.

Der Grund des Präparates ist hellbraun und die dunkelvioletten Bazillen heben sich sehr gut ab. Man sieht sehr schöne Bilder. Leukozyten und Epithelien erscheinen hellbraun mit dunkler tingierten, in ihrer Struktur sehr deutlich zu erkennenden Kernen. Die Begleitbakterien und besonders von diesen die Streptokokken zeigen hübsche dunkelbraune Farbe.

Der Ueberblick, den man über das Präparat hat, ist ein sehr guter und verliert auch nicht sofort an Güte, wenn ein Präparat einmal etwas dicker ausfällt. Man kommt bei längeren Untersuchungen zur Ueberzeugung, dass nach dieser Methode so gut wie gar keine Bazillen überfärbt und alle vorhandenen färberisch sichtbar gemacht werden. Diesen Eigenschaften verdankt die Methode ihre grosse Genauigkeit und Schärfe. Bei reichlichem Vorkommen von Bazillen in den Präparaten ergab die Hermannsche Färbung nach der

Gaffkyschen Skala immer die höchsten Zahlen und in Grenzfällen wurden öfters nach Hermann noch Bazillen gefunden, nachdem alle anderen Methoden negative Befunde geliefert hatten.

Warum die Hermannsche Methode so wenig in der Praxis angewendet wird, ist nicht recht verständlich. Die Technik ist nicht schwieriger und beansprucht nicht mehr Zeit als Ziehl-Neelsen und andere.

Die Karbolfuchsin-Tropäolinmethode ist eigentlich nur eine Modifikation der Ziehl-Neelsenschen, wobei die Kontrastfärbung mit Methylenblau durch eine gesättigte, alkoholische Lösung von Tropäolin substituiert wird. Ihren Ursprung verdankt sie nach der Angabe ihres Erfinders Boit dem Bestreben, eine Kontrastfärbung zu finden, welche nicht so viel überfärbt, wie eine Methylenblaulösung.

Bei der Tropäolinmethode sind die Tuberkelbazillen hochrot, die intrabazillären Granula etwas dunkler tingiert. Die Hüllen der Bazillen und die Bazillensplitter sind hellrot.

Der Grund des Präparates zeigt dunkelrötliche Färbung, dunkelrot erscheinen ferner die Begleitbakterien und Zellkerne, deren Zeichnung sehr deutlich ist. Der Schleim und das Protoplasma der Zellen ist hellrot.

Der Ueberblick über das Präparat ist kein sehr guter, es ist eben keine eigentliche Kontrastfärbung vorhanden. Alles im Präparat erscheint rötlich und die einzelnen Elemente unterscheiden sich färberisch nur durch die Farbnüancen, wodurch sich ein Durchsuchen des Präparates sehr mühsam gestaltet. Für das untersuchende Auge ist der rötliche Farbton, besonders bei künstlichem Licht, sehr angenehm.

Die Genauigkeit und Schärfe der Methode steht hinter der von Ziehl-Neelsen und etwa auf der gleichen Höhe wie die Fränkel-Gabbetsche.

In morphologischer Hinsicht leistet sie aber mehr als Ziehl-Neelsen, denn es kommen mit der Tropäolinmethode mehr granulierte Bazillen und Bazillensplitter zur Darstellung als nach Ziehl-Neelsen.

Für den Praktiker ist diese Methode ungeeignet, das Durchsuchen des Präparates macht viel Mühe und andere Methoden leisten besseres.

Die Spenglersche Methode bedient sich zur Kontrastfärbung einer Mischung von gleichen Teilen von Pikrinsäure und Alkohol.

Die Tuberkelbazillen sind leuchtend rot gefärbt und fallen auf dem gelben Grunde des Präparates gut ins Auge. Neben intakten Bazillen von homogener Stäbchenform oder von granulierter Form findet man noch zahlreiche Bazillensplitter und -trümmer.

Die Kerne der Zellen sind dunkelgelb, das Zellprotoplasma und die Schleimmassen hellgelb gefärbt.

Die Präparate geben einen guten Ueberblick und bringen vor allem die morphologischen Verhältnisse der Tuberkelbazillen mit grösster Deutlichkeit zu Gesicht. Splitter und Trümmer von Bazillen, die bei anderen Färbemethoden vielfach überfärbt werden, entgehen bei der Spenglerschen dem Beobachter nicht. Ein Ueberfärben von Bazillen ist bei der Pikrinmethode ziemlich ausgeschlossen, da bei der Helligkeit des Gesichtsfeldes alles, was irgendwie dunkler gefärbt ist, bemerkt wird.

Neben diesen Vorzügen für das morphologische Studium der Bazillen leistet die Methode auch an Schärfe des Bazillennachweises sehr gutes. Sie steht in der Beziehung zwischen Ziehl-Neelsen und Hermann.

Ein Nachteil der Methode ist, dass durch die Helligkeit des Gesichtsfeldes bei längerem Untersuchen das Auge stark ermüdet wird, in besonderem Masse bei künstlicher Beleuchtung.

Bei der Kronbergerschen Färbemethode wird die Kontrastfärbung mit verdünnter Jodtinktur ausgeführt.

Die Tuberkelbazillen färben sich dunkelrot und zeigen häufig eine heller rote Hülle. Es ist bei der Methode besonders auffallend, wie viele Bazillen granulierte Form zeigen. Die intrabazillären Granula sind dunkelrot, zum Teil beinahe schwarz gefärbt. Bazillen von homogener Stäbchenform finden sich nur ganz wenige. Vereinzelt sieht man dunkelrot gefärbte Bazillentrümmer, denen noch hellrote Hüllenreste anhaften.

Der Grund des Präparates ist rötlich braun und die Bazillen fallen durch ihre dunkelrote bis schwarze Färbung gut ins Auge.

Begleitbakterien sowie Kerne der Leukozyten und Epithelzellen sind hübsch rotbraun, Protoplasma und Schleimmassen heller braun gefärbt.

Das Präparat gibt einen guten Ueberblick und der rötlichbraune Farbton wird vom Auge sehr angenehm empfunden, besonders bei längeren Untersuchungen und bei künstlicher Beleuchtung.

Die Methode ist in erster Linie zu empfehlen, wenn man sich über die feinere Struktur des Bazillenkörpers informieren und vor allem morphologische Studien machen will, da durch die Kontrastfärbung so gut wie gar nichts überfärbt wird.

Auch was die Schärfe betrifft, liefert die Kronbergersche Methode durchaus gute Resultate. Sie ist bedeutend zuverlässiger als die Ziehl-Neelsensche Methode und steht an Güte etwa auf derselben Stufe wie die Spenglersche.

Die Gasis'sche Methode macht sich die Alkalifestigkeit des Tuberkelbazillus zu seiner färberischen Darstellung zu nutze.

Die Tuberkelbazillen erscheinen schön rot und zeigen wieder mehr Stäbchenform als bei den letzt besprochenen Methoden.

Der Grund des Präparates ist blau und es sind bei dieser Kontrastfärbung die roten Bazillen sehr deutlich zu erkennen. Leukozyten und Epithelzellen haben dunkelblaue Kerne mit guter Strukturzeichnung, das Protoplasma und der Schleim ist hellblau gefärbt. Sehr schön treten die Begleitbakterien, besonders die Streptokokken in ihrer dunkelblauen Färbung in Erscheinung.

Der Ueberblick, den das Präparat bietet, ist gut, doch werden auch bei dieser Methode wie bei der Fränkel-Gabbetschen und Ziehl-Neelsenschen viele Bazillen und Bazillentrümmer durch das Methylenblau überfärbt.

Rein zahlenmässig ergab die Gasis'sche Methode die schlechtesten Resultate von allen verglichenen Färbemethoden. Sie ist noch unsicherer als die Methode Ehrlich. Da ausserdem die Technik der Gasis'schen Methode ziemlich umständlich ist, kommt dieselbe für den vielbeschäftigten Praktiker nicht in Betracht, dieselbe hat mehr akademisches Interesse.

Fasst man nun nochmals kurz zusammen, so ergibt sich, dass für die Praxis, wo es sich einfach um den Nachweis von Bazillen handelt, die Färbung nach Hermann die schärfste und den andern Methoden weit überlegene ist. Bei bazillenreichen Sputen ergab sie nach Gaffkyscher Skala immer die höchsten Zahlenwerte. Ferner gab die Hermannsche Methode in 17 % mehr Fällen noch positive Resultate, wo die andern Methoden versagten. Sie ergibt klare Bilder und deutlichen Ueberblick und ist auch mit den einfachsten Hilfsmitteln schnell und bequem auszuführen. Alle diese Vorzüge machen die Hermannsche Färbung zu der Färbemethode des Praktikers.

An zweiter Stelle kommen die Methoden von Spengler und Kronberger, die sich ungefähr die Wage halten. Auch diese geben gute und sichere Resultate. Sie kommen hauptsächlich für die Fälle in Betracht, bei denen man sich neben dem Bazillennachweis auch noch über morphologische Verhältnisse informieren will. Werden doch durch die Kronbergersche Färbung viele granulierte Formen und durch die Spenglersche viele Bazillentrümmer und -splitter noch sichtbar gemacht, die mit anderen Methoden nicht zur Darstellung kommen.

An dritter Stelle reiht sich die Färbemethode von Ziehl-Neelsen an. Auch sie gibt gute und für viele Fälle der Praxis genügende Resultate und färberisch und übersichtlich sehr schöne Bilder. Doch steht sie den vorgenannten Methoden an Schärfe nach, da eben viele spezifische Elemente im Präparat durch das Methylenblau überfärbt und überdeckt werden. Für morphologische Studien ist die Methode ungeeignet.

Auf die übrigen Methoden nochmals einzugehen, erübrigt sich. Die Vorzüge und Mängel derselben sind weiter oben besprochen.

Sie geben teils nicht besonders gute Bilder, teils ist ihre Technik nicht einfach. Ausserdem lässt die Schärfe und Genauigkeit des Bazillennachweises viel zu wünschen übrig, sodass die Methoden für die Praxis und den täglichen Gebrauch nicht in Betracht kommen.

Bei Anwendung der auf seiner Säure- oder Alkalifestigkeit beruhenden Färbemethoden tritt der Tuberkelbazillus am häufigsten als schlankes homogenes Stäbchen in Erscheinung. Daneben finden sich immer, aber in geringerer Anzahl, auch granulierte Stäbchen, bei denen der Stäbchenverband von ungefärbten Vakuolen oder von stärker gefärbten Körnchen unterbrochen ist.

Much's Verdienst ist es nun, nachgewiesen zu haben, dass es ausser den eben genannten beiden säurefesten Formen noch eine andere Form des Tuberkulosevirus gibt, die sich nur mit der von Much modifizierten Grammethode darstellen lässt, die sog. Muchschen Granula.

Jeder normale, vollentwickelte Bazillus lässt sich auch mit der Muchschen Granulafärbung darstellen, darf aber nur auf Grund davon, dass er dann granuliert erscheint, nicht als Muchsches Granulum angesprochen werden. Als Muchsche Granula dürfen vielmehr nur die Formen des Tuberkulosevirus bezeichnet werden, die nach den die säurefeste Substanz färbenden Methoden nicht dargestellt werden können, und allein nach der von Much modifizierten Gramschen Methode zur Darstellung kommen.

Die Muchschen Granula treten als nach Ziehl nicht färbbare, granulierte Stäbchen, als einzelne Granula oder als Granulahaufen in Erscheinung. Die Frage, als was die Muchsche Granula aufzufassen sind, ist durch neuere Forschungen wohl allgemein anerkannt dahin entschieden, dass dieselben in ihrer Konstitution durch irgendwelche Einflüsse geschädigte Tuberkelbazillen sind. Dadurch ist auch die geringere Virulenz erklärt. Doch können die Granula jederzeit wieder zu vollwertigen Bazillen auswachsen. Die Tatsache, dass Tuberkulöse oft wohl keine ziehlfärbbaren Bazillen, jedoch häufig Muchsche Granula ausscheiden, spricht für die grosse Wichtigkeit des Nachweises derselben.

Bei den vergleichenden Untersuchungen wurden die Präparate, bei denen mit allen auf der Säurefestigkeit beruhenden Methoden nichts nachgewiesen werden konnte, nach der Muchschen Färbung untersucht. Einfach alle Präparate nach der Muchschen Färbung zu untersuchen, ist zwecklos. Auch säurefeste Bazillen färben sich nach Gram-Much und es ist dann nicht zu entscheiden, ob man wirkliche Muchsche Granula oder nur säurefeste granulierte Bazillen vor sich hat.

Färbemethode zur Darstellung der Muchschen Granula (von Much modifizierte Grammethode):

10 ccm einer gesättigten alkoholischen Lösung von Methylviolett B N (Grübler) werden mit 90 ccm 2%iger Phenollösung gemischt und filtriert. Vor dem Gebrauche muss die Farblösung jedes Mal filtriert werden. Sie muss dunkelviolett aussehen. Wenn ein hellerer Farbton auftritt, ist sie wohl noch für die gewöhnliche Gramfärbung brauchbar, aber unbrauchbar zur Darstellung Muchscher Formen. Der Farbumschlag tritt meist schon nach 3 Tagen ein, sodass eine über 3 Tage alte Lösung nicht mehr zu gebrauchen ist. Am besten verwendet man jeden Tag frische Farblösungen.

Aufgiessen der Lösung aufs Präparat, erhitzen bis zur Blasenbildung, drei Mal wiederholen, jedes Mal Farbstoff erneuern.

Präparat kommt ohne Wasserspülung in Jodjodkaliumlösung (Jod 1, Jodkalium 3, Aqu. dest. ad 300,0) für 5—10 Minuten. Dann Wasserspülung, 5%ige Salpetersäure 1 Minute, 3%ige Salzsäure 10 Sekunden.

Azetonalkohol (aa) bis zum Entfärben.

Abspülen in Wasser. Auf völliges Freisein von Farbstoffniederschlägen ist aufs Sorgfältigste zu achten.

Beim Untersuchen der gewöhnlichen Ausstrichpräparate sieht man keine übersichtlichen Bilder. Das ganze Gesichtsfeld zeigt violette Farbe und die einzelnen Elemente unterscheiden sich färberisch eigentlich nur durch den Farbton.

Am dunkelsten tingiert sind die Muchschen Granula, die schön und in charakteristischen Formen meist erst nach längerem, oft nach sehr langem Suchen zu Gesicht kommen. Der Umstand, dass sich im Präparat neben den Muchschen Granula viele andere grampositiven Elemente befinden, erschwert die Untersuchung sehr. Man muss deshalb in der Beurteilung der gefundenen Granula sehr vorsichtig sein, da sonst zu leicht Verwechslungen mit Kokken oder grampositiven kurzen Stäbchen unterlaufen. Als weitere Vorsichtsmassregel empfiehlt es sich nur solche Granula in der Hauptsache als Muchsche anzusprechen, die noch einigermassen Stäbchenverband erkennen lassen. Noch grössere Reserve ist bei der Beurteilung einzeln auftretender Granula am Platze.

Den besten Schutz gegen alle Verwechslungen bietet die Uhlenhuthsche Antiforminmethode, die durch Auflösung aller Sputumbestandteile mit Ausnahme des Tuberkulosevirus für die Untersuchung die günstigsten Verhältnisse schafft.

Die zelligen Elemente im Präparat sind ebenfalls violett gefärbt, die Kerne zeigen dunklern, das Zellprotoplasma und der Schleim hellere Tinktion. Die Strukturverhältnisse sind nicht sehr klar zu überblicken.

Bei der Durchsicht der Präparate unter strenger Beobachtung

oben genannter Kautelen ergab sich, dass in rund 11 % mehr Fällen die Muchsche Färbung noch Tuberkulosevirus der granulären Form zur Darstellung brachte, wo mit den auf Säurefestigkeit beruhenden Methoden nichts nachgewiesen werden konnte.

Trotz des ohne weiteres einleuchtenden grossen Wertes des Nachweises auch der granulären Form des Tuberkuloseerregers, wird die Muchsche Methode wohl kaum Allgemeingut der Praxis werden.

Die Technik der Färbung ist nicht ganz einfach und ausserdem werden an die Ausdauer und Geduld des Untersuchers die grössten Anforderungen gestellt, denen der Praktiker nicht nachkommen kann.

Will man sich nun über die im Präparat vorliegenden Formen des Tuberkuloseerregers in erschöpfender Weise informieren, so kann diese Forderung von keiner der beiden besprochenen Untersuchungsarten restlos erfüllt werden.

Die eine Art bringt nur die säurefesten Substanzen des Tuberkulosevirus zur Darstellung, die andere nur die grampositiven.

Diese Einseitigkeit entfällt bei der Doppelfärbung, die beide Darstellungsarten kombiniert. Die Doppelfärbung zeigt alles, was färberisch überhaupt sichtbar gemacht werden kann.

Bei den vergleichenden Untersuchungen wurden bei jeder Präparatserie auch Doppelfärbungen angewandt und zwar die von Much-Weiss und von Knoll angegebenen.

Färbung nach Much-Weiss:

3 Teile Karbolfuchsin werden gemischt mit einem Teile der für die Färbung der Muchschen Granula benutzten Methylviolettlösung.

Führen des Präparates über die Flamme 4 Mal bis zum Aufkochen unter jedesmaliger Erneuerung des Farbstoffes.

5—10 Minuten Lugolsche Lösung.

5 %ige Salpetersäure 1 Minute.

3 %ige Salzsäure 10 Sekunden.

Azetonalkohol (aa) bis kein Farbstoff mehr abfliesst.

Wasserspülung.

Färbung nach Knoll:

Stammlösung A Methylviolett konzentr. alk.

Stammlösung B Fuchsin konzentr. alk.

1. Stammlösung B 1 ccm auf 10 ccm einer 3 %igen Resorzinlösung.
2. Hinzufügen von Stammlösung A, bis die Farbe auf Fliesspapier einen Fleck mit violettem Zentrum und hellrotem Saume aufweist.
3. Färben warm 5 Minuten, bis Dämpfe abgehen, die letzte ½ Minute bis Blasen springen, oder kalt während 24 Stunden.

4. Lugolsche Lösung $1^1/_2$—2 Minuten.
5. Differenzieren in H Cl Alkohol (70 %) von 2 %.
6. Entfärben in Azeton pur. bis Präparat rot erscheint.
7. Entfernen des Azetons mit Alkohol absolut.
8. Lufttrocknen.

Die beiden Doppelfärbungen geben färberisch ziemlich dieselben Bilder und können deshalb zusammen besprochen werden. Was von der einen zu sagen ist, gilt im Wesentlichen auch von der andern.

Die Präparate sind sehr übersichtlich, der Farbton wird von dem untersuchenden Auge angenehm empfunden.

Das Tuberkulosevirus erscheint in den verschiedensten Formen. Bald sieht man rote homogene Stäbchen, bald zeigen sich dieselben etwas dunkler rot granuliert. In andern fuchsinophilen Stäbchen sieht man dunkelviolette Granula liegen, die häufig dicker als der Bazillenleib sind und wie gequollen aussehen. Manchmal sind die Granula dem Bazillenleib angelagert. An andern Stellen erblickt man Granulahaufen und einzelne zerstreut liegende Granula. Ganz vereinzelt finden sich die sog. Muchschen Bazillen, die gar keine fuchsinophile Substanz besitzen und als hellviolette Stäbchen mit eingelagerten dunkelvioletten Granulis in Erscheinung treten.

In den mit Doppelfärbungen tingierten Präparaten zeigt sich das Tuberkulosevirus in einer ganz erstaunlichen Vielgestaltigkeit.

Der Grund des Präparates ist von rötlich-violetter Farbe. Begleitbakterien sind violett gefärbt, die grampositiven besonders dunkel. Zellkerne sind ebenfalls dunkelviolett, Protoplasma und Schleimmassen heller violett. Die Strukturverhältnisse sind gut zu erkennen und übersichtlich.

Was bei der Beurteilung der von Much modifizierten Grammethode gesagt wurde, gilt auch hier. Beim gewöhnlichen Ausstrichpräparat unterlaufen sehr leicht Verwechslungen besonders mit grampositiven Begleitbakterien. Es ist deshalb grosse Vorsicht und Zurückhaltung bei der Beurteilung angebracht. Eine reinliche Scheidung zwischen spezifischen und unspezifischen Elementen wird auch hier durch Anwendung des Antiforminverfahrens erzielt.

An Schärfe des Bazillennachweises stehen die beiden Doppelfärbungen hinter den auf Säurefestigkeit beruhenden Färbemethoden zurück, im Nachweis der Muchschen Granula leisten sie nicht mehr als die modifizierte Grammethode.

Im Uebrigen gibt die Methode von Much-Weiss etwas bessere Resultate als die von Knoll.

Die Doppelfärbungen leisten Ausgezeichnetes, wenn man die Morphologie des Tuberkulosevirus eingehend studieren will. Sie

bringen alle Formen des Erregers, die im Präparat vorhanden sind, zur Darstellung und liefern schöne Bilder.

Die Technik der Doppelfärbung ist jedoch ziemlich kompliziert und zeitraubend.

Das systematische Durchmustern des Präparates nimmt sehr viel Zeit in Anspruch, deshalb werden auch diese Färbemethoden wohl kaum Allgemeingut der Praxis werden, sondern mehr Studienzwecken vorbehalten bleiben, zumal für die Praxis im Allgemeinen der einfache Bazillennachweis genügt.

Zum Schlusse dieser Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Weitz für die Anregung, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Brösamlen, Oberarzt der medizinischen Klinik, für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen.

LEBENSLAUF.

Verfasser dieser Arbeit, Karl Dordt, wurde am 27. Juni 1891 als Sohn des Postinspektors Karl Dordt zu Stuttgart geboren.

Nach Besuch der Volks- und Lateinschule in Horb a. N. bezog ich das Eberhard-Ludwigsgymnasium zu Stuttgart, wo ich im Herbst 1909 absolvierte.

Ich widmete mich dem Studium der Medizin an der Universität Tübingen, wo ich im Frühjahr 1912 das Tentamen physikum bestand. Während des Sommersemesters 1912 studierte ich in Kiel und genügte dann vom 1. Oktober 1912 bis 1. April 1913 meiner Dienstpflicht mit der Waffe in Ulm a. D. Im Sommersemester 1913 kehrte ich nach Tübingen zurück, wo ich bis Kriegsausbruch studierte. In den ersten Tagen des August 1914 kam ich ins Feld und es war mir erst im Sommer 1916 möglich, eine Versetzung in die Heimat zu erwirken, wo ich im September 1916 das medizinische Staatsexamen bestand.

LITERATURVERZEICHNIS.

Koch: Mitteilungen des kaiserlichen Gesundheitsamtes 1884.

Hermann: Annales de l'institut Pasteur 1908 Nr. 1.

Spengler: Deutsche mediz. Wochenschriff 1907 Nr. 9.

Gasis: „ „ „ 1909 Bd. 50.

Kronberger: Brauersche Beiträge 16. Bd. 2. Heft.

Weiss: Berliner klinische Wochenschrift 1909, Nr. 40 und Mitteilungen aus den Hamburger Staatskrankenanstalten Bd. XI, Heft 9.

Knoll: Deutsches Archiv für klin. Medizin 1912 Bd. 109.

Much: Ueber die granuläre, nach Ziehl nicht färbbare Form des Tuberkulosevirus. Beitr. zur Klinik der Tuberkulose Bd. 8, Heft 1 und 4.

Brauer: Handbuch der Tuberkulose Bd. 1.

Bandelier-Röpke: Die Klinik der Tuberkulose.

Bacmeister: Lehrbuch der Lungenkrankheiten.

Neumann: Der Tuberkelbazillus.

E. Boit: Ueber Färbung und Gegenfärbung der Tuberkelbazillen, Beitr. zur Klinik der Tuberkulose 1916, Bd. 36 Heft 2.

Schranz: Zur Färbung der Tuberkelbazillen. Internes Centralblatt 1918 Heft 1.